

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DO PERFIL FARMACODINÂMICO
ANTI-INFLAMATÓRIO E ADMET *in silico* DE DERIVADOS
ARIL-TIAZOIS**

Cidla de Sousa Marinho¹

Jamerson Ferreira de Oliveira²

RESUMO

A Química Medicinal exerce um papel fundamental no avanço da farmacologia, através dessa área é possível realizar tanto o melhoramento de fármacos como a descoberta de novas estruturas moleculares com propriedades terapêuticas. Dentre as necessidades observadas no mercado farmacêutico, destaca-se a classe dos anti-inflamatórios a qual apresenta efeitos adversos indesejados. Diante desse cenário, a tiossemicarbazona e seus derivados tiazóis são considerados possíveis alternativas a fármacos por apresentarem grande versatilidade biológica. Frente a esse contexto, o presente estudo teve como objetivo a síntese, caracterização e análise das propriedades físico-químicas e características farmacocinéticas e farmacodinâmicas *in silico* de uma tiossemicarbazona (TSC-06) e seus derivados tiazóis (TZ-09 e TZ-10). Para síntese desses compostos foram utilizadas metodologias de agitação e refluxo para TSC-06 e banho ultrassônico para TZ-09 e TZ-10, a espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) foi aplicada para análise vibracional. Os estudos de *docking* molecular foram processados no software *GOLD* versão 2024.1.0, a obtenção dos metabólitos testados (TSC-06-M1; TZ-09-M2 e TZ-10-M3) foi realizada através da plataforma *online* *XenoSite*, a preparação dos arca-bouços moleculares no software *MarvinSketch* e a minimização de energia no *ArgusLab*. O banco de dados *Protein Data Bank* foi utilizado para aquisição das proteínas-alvo: COX-1 (PDB ID: 4O17) e COX-2 (PDB ID: 4M11) e as interações dos complexos ligante-macromolécula foram representadas no *Discovery Studio 2024 Client*. Para as características farmacocinéticas as plataformas *online* *SwissADME* e *pkCSM*. Os rendimentos de encontrados 76,8% (TSC-06), 62,7% e 53,3% (TZ 09 e TZ-10) foram de acordo com os presentes na literatura, os espectros obtidos por IV mostram estiramentos característicos da tiossemicarbazona como o grupamento N-H na faixa (3310 cm⁻¹) e posteriormente o desaparecimento do mesmo em decorrência da reação do tiazol. O TSC-06 e TZ-10 apresentaram boa biodisponibilidade oral e os tiazóis mostraram-se mais seletivos para COX 2 que a TSC-06. Diante dos resultados os compostos podem ser considerados promissores para o desenvolvimento de fármacos, sendo necessário estudos complementares para elucidar melhor suas atividades.

Palavras-Chave: *Docking* Molecular, Síntese, Farmacodinâmica, Anti-inflamatório.

¹Discente do curso de Farmácia da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

²Docente do curso de Farmácia da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

1. INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta a estímulos nocivos (infecções ou tecidos e células danificadas) e desempenha três fatores primordiais, sendo eles: o recrutamento de células do sistema imunológico para o local afetado com o objetivo de destruir os patógenos, promoção da coagulação sanguínea local para formar uma barreira física e evitar a disseminação da infecção e a restauração dos tecidos (Murphy, 2014).

Após a exposição aos agentes nocivos as citocinas liberadas sinalizam a presença de microrganismos, causando a ativação da enzima Fosfolipase A2 responsável por degradar a membrana celular e liberar fosfolipídios que serão convertidos em ácido araquidônico. Esse ácido pode ser metabolizado por duas vias distintas: via das lipoxigenases e a via das cicloxigenases. Na via das lipoxigenases ele é transformado em hidroperóxidos originando os leucotrienos. Já na via das cicloxigenases, essas enzimas convertem o ácido araquidônico em prostaglandinas que são moléculas lipídicas reguladoras de alguns processos relacionados a função renal, a agregação plaquetária, a liberação de neurotransmissores e a modulação da função imune (Chamusca *et al.*, 2012; Marques *et al.*, 2022).

Essas respostas imunológicas acabam gerando manifestações clínicas que são características da inflamação, sendo as principais conhecidas como os cinco sinais cardinais: o calor e o eritema (vermelhidão) em virtude da vasodilatação que gera o sinal da hiperemia (aumento do fluxo sanguíneo), o edema (inchaço) causado pelo aumento da permeabilidade vascular que permite que as células endoteliais que revestem as paredes dos vasos sanguíneos se separem, resultando na saída de líquido e proteínas que acumulam no tecido, também se tem a dor que é induzida pela compressão das terminações nervosas pelo edema e pelas proteínas secretadas (citocinas, quimiocinas) e por fim a perda de função ocasionada pelo edema e pela dor (Etienne *et al.*, 2021; Marques *et al.*, 2022).

Diante desse cenário, a estratégia farmacológica mais utilizada para controlar os sinais supramencionados são os anti-inflamatórios que são divididos em duas grandes classes, os glicocorticóides que induzem a liberação de lipocortinas que interferem na ação da enzima Fosfolipase A2 limitando assim a liberação de ácido araquidônico e a classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), que são os mais prescritos. Essa classe atua inibindo as enzimas cicloxigenases as quais possuem duas principais isoformas (COX-1 e COX-2). A COX-1 possui papel fisiológico importante na manutenção da homeostase, proteção da mucosa gástrica, controle do fluxo sanguíneo renal e agregação plaquetária

(Dudzinski; Serhan, 2014; Oliveira *et al.*, 2019).

Devido a seu uso comum e abrangente essa classe de medicamentos desenvolveu um bom perfil de segurança, entretanto, são observados efeitos indesejáveis provenientes do seu uso prolongado, os AINEs não seletivos interagem com as duas isoformas das enzimas, apesar de possuir níveis de afinidade diferentes, o uso desses fármacos pode resultar em reações adversas graves, como por exemplo, gastropatia induzida por AINE, úlceras, lesões, hemorragias e erosão da mucosa gástrica. Esses efeitos são consequências da inibição da COX-1 e das suas funções citoprotetoras. Já os seletivos para COX-2 estão diretamente relacionados a reações adversas cardiovasculares (Dudzinski; Serhan, 2014; Oniga *et al.*, 2017; Marques *et al.*, 2022).

Frente a esse contexto destaca-se o papel fundamental da Química Medicinal que é responsável por planejar compostos biologicamente ativos e aprimorar o perfil farmacodinâmico e farmacocinético dos fármacos através de metodologias de modificação molecular como bioisosterismo, simplificação e hibridização molecular (Melquides *et al.*, 2024; Miranda, 2018).

As moléculas de tiossemicarbazonas apresentam versatilidade química devido a propriedade quelante apresentada por sua estrutura molecular e vem ganhando espaço na literatura por suas diversas atividades biológicas antifúngicas, antibacteriano, antiparasitária, antitumorais (Neto *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2023; Mendes *et al.*, 2019; Niso *et al.*, 2021). Assim como as moléculas mencionadas, os tiazóis também são amplamente reconhecidos por apresentarem várias atividades biológicas e um bom grupo farmacóforo, tendo sua estrutura presente em mais de 18 medicamentos aprovados pela FDA (Petrrou; Fesatidou; Geronikaki, 2021).

Visto isso, o presente estudo objetiva sintetizar e avaliar *in silico* derivados tiossemicarbazonas e tiazóis através de plataformas computacionais que fornecem dados de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET). Alinhado a essa finalidade, um dos mecanismos que também foi empregado nas análises *in silico* para estudo dessas moléculas possíveis precursoras de fármacos é o *docking molecular* que é uma técnica que consiste na formação de um complexo entre ligante e macromolécula onde se pode analisar a afinidade de ligação ou a força de associação entre o alvo farmacológico e o fármaco (Santos, 2021).

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese dos compostos do estudo

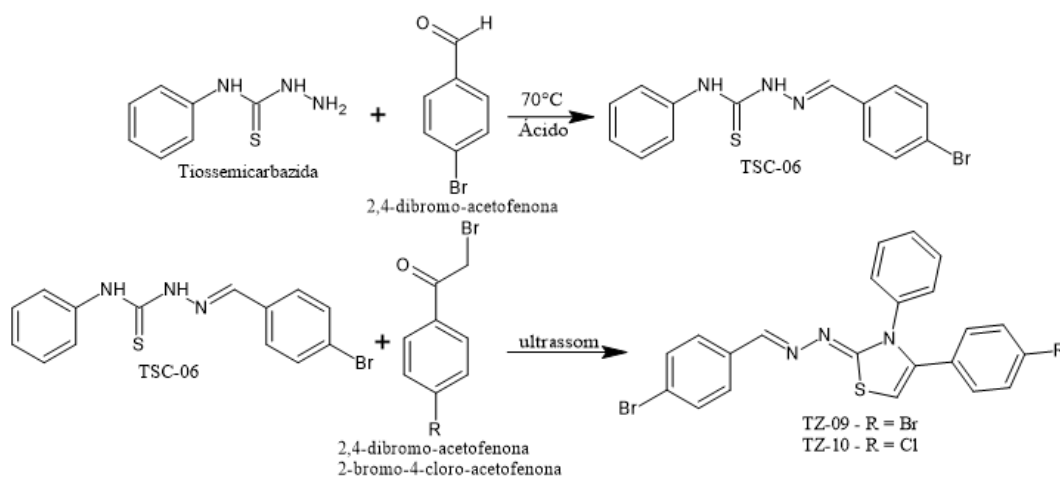
2.1.1 Síntese da 4-bromo-benzilideno-tiossemicarbazona (TSC-06)

A síntese da tiossemicarbazona identificada como TSC-06 foi realizada em um balão de fundo redondo, na proporção estequiométrica 1:1 (0,5 g de *N*-fenil-tiossemicarbazida e 0,55 g de 4-bromo-benzaldeído), onde foi utilizado 15 mL de álcool etílico como solvente e 10 gotas de ácido acético com função catalisadora. A reação foi mantida em banho de óleo sob refluxo e agitação magnética. Após 1 hora, houve a formação de um precipitado e foi realizado a CCD para confirmação do consumo total dos reagentes. Em seguida, o produto foi filtrado, recristalizado em meio etanólico e seco em estufa a 50° C.

2.1.2 Síntese dos 4-aryl-tiazóis (TZ-09 e TZ-10)

A partir da TSC-06 foram então obtidos dois novos tiazóis os quais receberam a identificação de TZ-09 e TZ-10. A síntese dos tiazóis ocorreu em banho ultrassônico em proporção estequiométrica 1:1 e demandou 0,1 g da tiossemicarbazona (TSC-06) e duas acetofenonas, sendo 0,0831 g de 2,4-dibromoacetofenona para o TZ-09 e 0,689 g de 2-bromo-4-cloro-acetofenona para o TZ-10. Foram adicionados 15 mL de álcool etílico, como solvente e a reação ocorreu durante 40 minutos, tempo necessário até que houvesse a formação de um precipitado amarelo. Após isso, o produto foi filtrado, recristalizado em meio etanólico e seco em estufa a 50° C.

Figura 1 - Esquema de síntese das moléculas



Fonte: Dos autores, 2024.

2.2 Determinação do Ponto de Fusão

A determinação do ponto de fusão foi realizada em duplicata e utilizou-se um fusiômetro Fisatom modelo 433 e capilares de vidro. Também foi estabelecido como parâmetro de aceitação uma variação de até 2° C de diferença entre o ponto inicial e final da fusão para certificação qualitativa do grau de pureza dos compostos obtidos.

2.3 Análise vibracional

A análise vibracional foi realizada por espectroscopia de absorção na região infravermelho, através dela obtiveram-se os espectros das moléculas. Para o preparo das amostras foi adicionado 5 mg dos compostos (TSC-06; TZ-09 e TZ-10) em placas de petri, os quais foram postos para secagem em estufa a 50° C por 30 minutos para retirada completa de qualquer resquícios do solvente alcoólico. O instrumento analítico utilizado tratou-se do espectrômetro FT-IR VERTEX 70v, aplicando o acessório da Reflectância Total Atenuada (ATR) com auxílio do software OPUS. Os dados obtidos foram modificados para transmitância e plotados em gráficos através do *software Origin 2018*, com faixa espectral entre 4000 a 400 cm⁻¹.

2.4 Predição farmacocinética e farmacodinâmica *in silico*

2.3.1 Avaliação da biodisponibilidade oral e do perfil farmacocinético *in silico*

A avaliação da biodisponibilidade oral foi testada *in silico* através das regras de Lipinski que analisa os critérios de peso molecular, grupos doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, MLogP e de Veber com área de superfície polar e o número de ligações com flexibilidade (Barreiro; Fraga, 2015). A via oral foi considerada por ser a de maior adesão do paciente sendo de fácil administração, indolor e de baixo custo.

Foi utilizado o *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>) para obtenção dos parâmetros supramencionados e do código *SMILE* necessário para avaliação das características farmacocinéticas no *pKCSM* (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>) onde se obtém os dados de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET). Para obtenção dos principais metabólitos foi utilizado uma plataforma *online* chamada *Xenosite* (<https://xenosite.org/>) que fornece uma projeção dos pontos de metabolização da molécula tornando possível avaliar a estrutura do metabólito de primeira fase do possível fármaco estudado, esses compostos foram identificados como TSC-06-M1; TZ-09-M2; TZ-10-M3.

2.3.2 Docking Molecular

A plataforma *online Protein Data Bank* foi a ferramenta utilizada para obtenção os alvos cocrystalizados de interesse COX-1 (PDB ID: 4O1Z) e COX-2 (PDB ID:4M11) em complexo com o medicamento de referência escolhido que foi o Meloxicam em decorrência da similaridade estrutural do fármaco com as moléculas sintetizadas.

O desenho do arcabouço molecular dos compostos (TSC-06; TZ-09; TZ-10) e seus metabólitos (TSC-06-M1; TZ-09-M2; TZ-10-M3) foi estabelecido no *software MarvinSketch* onde também foi possível testar o estado de protonação da molécula no pH 7.4. Para definir a conformação mais estável dos mesmos foi empregada a plataforma *ArgusLab* onde foi aplicado o campo de força hamiltoniano PM3 que permite uma triagem avaliando no máximo de 1000 conformações de cada composto, a fim de definir a de menor energia (Batista *et al.*, 2021).

No *software GOLD 2024.1.0 (Genetic Optimization for Ligand Docking)* houve a preparação dos alvos através da remoção de possíveis interferências presentes na estrutura cristalizada. Além disso, a adição de átomos de hidrogênio já que em estruturas cristalográficas os mesmos não são visíveis (Mohanty, M.; Mohanty, P., 2023). Na mesma ferramenta computacional o *redocking* foi realizado. Esse processo tem como objetivo validar o método, pois ele avalia a capacidade do algoritmo de conduzir o ligante proposto à conformação determinada pelo ligante co-cristalizado (Batista *et al.*, 2021).

O processo de Redocagem foi proposto em quatro tipos de funções de scores diferentes, sendo elas: *ChemPLP*, *ChemASP*, *ChemSCORE* e *GoldSCORE*, com o objetivo de determinar o menor valor de Desvio Médio Quadrático (RMSD) sendo aceito apenas valores ≤ 2 Å (Mohanty, M.; Mohanty, P., 2023). O *Docking Molecular* foi proposto na função *ChemPLP* que apresentou melhor resultado de RMSD.

3. RESULTADOS

3.1 Síntese

A tiossemicarbazona se apresentou como um sólido branco com rendimento de 76,8% valor dentro das faixas de resultados presentes na literatura 68%-83% (Jasass, Alshehrei; Farghaly, 2018), 57%-85% (Muğlu, 2024), 62%-77% (Prasad *et al.*, 2024). Além disso, o ponto de fusão de 189,5° C e fator de retenção 0,52 em sistema de eluição hexano-acetato de etila 8:2 foram outras características obtidas para o composto (Tabela 1).

Tabela 1- Aspectos físico-químicos dos compostos.

Parâmetros	TSC-6	TZ-09	TZ-10
Aspectos físicos	Branco	Amarelado	Amarelado
Rendimento (%)	76,8	62,7	53,3
Ponto de fusão (°C)	189,5	238,5	240
Fator de retenção	0,52	0,46	0,47

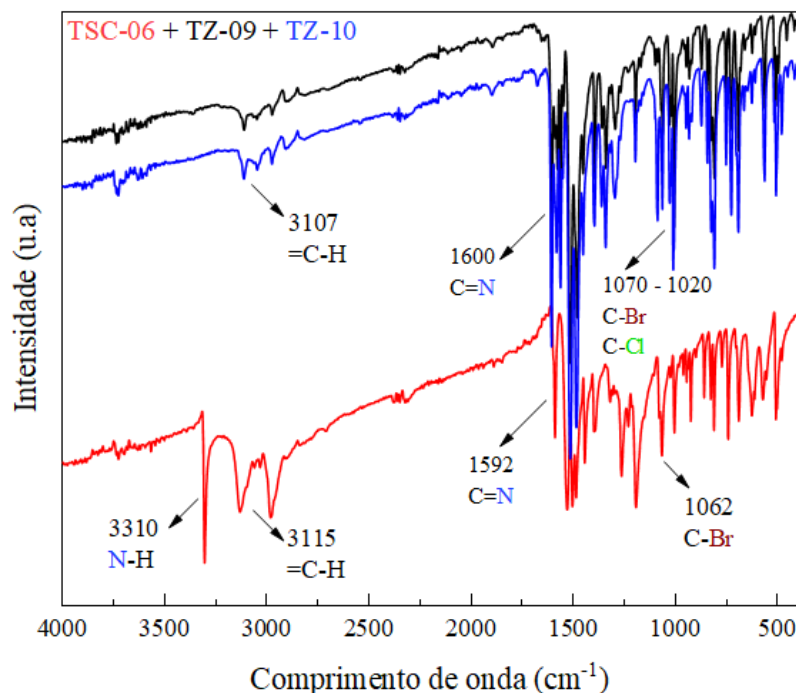
Fonte: Dos autores, 2024.

Os tiazóis (TZ-09 e TZ-10) obtidos apresentaram-se como sólidos amarelados com respectivos rendimentos de 62,7% e 53,3% semelhante a faixa de valores encontrados na literatura 51%-92% (Hottes, 2016), 56%-78% (Espindola, 2017), 56%-97% (Marufa *et al.*, 2024), fator de retenção de 0,46 e 0,47 no sistema de eluição hexano-acetato de etila - 9:1 e pontos de fusão de 238,5° C e 240° C (Tabela 1).

3.2 Análise vibracional

Comparando os espectros dos tiazóis frente a tiossemicarbazona, observa-se diferenças que indicam a formação dos compostos junto aos resultados obtidos após Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Inicialmente, destaca-se o desaparecimento do estiramento N-H no comprimento de onda de 3310 cm⁻¹, justificando-se pelo mecanismo de reação dos tiazóis, em que se observa um ataque intramolecular do grupo amino a carbonila com posterior formação do anel tiazol. Ademais, outro ponto de relevância trata-se do deslocamento referente a banda do grupamento imina (C=N) nos tiazóis em 1600 cm⁻¹, justificando-se pela formação de mais uma imina em suas estruturas após a substituição nucleofílica. Além disso, pode-se destacar também a presença de bandas referentes aos grupamentos brometo de arila e cloreto de arila na faixa de 1070 a 1020 cm⁻¹, obtidos após a conjugação com acetofenona ou remanescentes da tiossemicarbazona (Pavia *et al.*, 2010). Os estiramentos obtidos são congruentes com o que se observa em literatura (Nascimento, 2020; Júnior, 2020) Por fim, torna-se interessante destacar que a espectroscopia de absorção no infravermelho (IV) é limitada, necessitando de técnicas espectroscópicas mais robustas, como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para confirmar os arcabouços moleculares dos compostos (Nascimento, 2020)

Figura 2 - Análise espectroscópica no infravermelho da tiossemicarbazona e derivados tiazóis.



Fonte: Dos autores, 2024.

3.2 Avaliação da biodisponibilidade oral *in silico* da tiossemicarbazona e dos tiazóis

Como mostrado na Tabela 2, o composto TSC-06 e TZ-10 demonstram boas características de biodisponibilidade oral, destacando que a regra de Lipinski permite uma violação dos parâmetros estabelecidos. Entretanto, o TZ-09 violou dois desses parâmetros e, dessa forma, o mesmo não atende às exigências da regra, apesar disso o composto não deixa de ser considerado um possível protótipo a fármaco, visto que, estratégias de tecnologia farmacêutica podem ser aplicadas para melhorar sua solubilidade e também pode-se considerar a veiculação por outra via de administração. Com relação à elevada massa molecular do TZ-09, este fato está relacionado à presença de dois átomos de bromo (Br), o qual possui massa atômica elevada (79,90 u). O tamanho molecular está relacionado à absorção do fármaco e, portanto, quanto maior seu peso molecular menor sua solubilidade aquosa e permeabilidade (Balakrishnan *et al.*, 2022).

Os tiazóis apresentam características mais apolares devido a presença de resíduos aromáticos que funcionam como sítios hidrofóbicos, por isso o valor do LogP deles se mostram mais elevados em comparação com a tiossemicarbazona que apresenta átomos com propriedades mais polares, como por exemplo o enxofre na forma tautomérica tiol (R-SH). No TZ-09 a presença de dois substituintes bromo (4-bromo-fenil em C-4 do tiazol) justifica o

valor de LogP acima do de referência e também acima do LogP do TZ-10, isso se dá por esse átomo possuir um maior raio atômico, o que dificulta a polarização da molécula. No caso do TZ-10, o composto é substituído por um átomo de cloro (4-cloro-fenil em C-4 do tiazol) que possui uma menor massa atômica (35,45 u) e menor raio atômico em comparação ao átomo de bromo, o que configura um menor incremento na lipofilicidade da molécula em questão. Com relação às regras de Veber, todos os compostos avaliados ficaram dentro dos limites determinados.

Tabela 2 - Avaliação *in silico* das moléculas de acordo com as regras de Lipinski e Veber.

Valores de Referência	TSC-06	TZ-09	TZ-10
MLogP $\leq 4,15$	3,51	5,54	5,43
Massa Molecular ≤ 500	334,23	513,25	468,80
Aceptores de ligação de Hidrogênio ≤ 10	1	2	2
Doadores de ligação de Hidrogênio ≤ 5	2	0	0
Ligações Rotativas ≤ 10	5	4	4
TPSA ≤ 140 (Å ²)	68,51	57,89	57,89
Número de violações das regras Lipinski e Veber	0	2	1

Fonte: Dos autores, 2024.

3.4 Avaliação do perfil ADMET *in silico* da tiossemicarbazona e dos tiazóis

Os resultados das características farmacocinéticas dos derivados podem ser observados a seguir. Para a absorção intestinal humana ser considerada boa deve ser acima de 30%. Dessa forma, todos os compostos demonstraram ótimos resultados, sendo o TZ-10 o de melhor porcentagem. Outro parâmetro relacionado a absorção é a permeabilidade Caco-2 que é responsável por avaliar a capacidade de permeabilidade das barreiras biológicas, sendo os compostos de alta permeabilidade aqueles que apresentam valores acima de 0,90 cm.s⁻¹, todas as moléculas também obtiveram resultados acima do valor de referência (Pires; Blundell; Ascher, 2015; Júnior, 2020) (Quadro 1).

O volume de distribuição (VDSs) que é a porção do fármaco entre o plasma sanguíneo e os tecidos, quando o VDss (log VDss) $> 0,45$, indica boa distribuição do plasma para os tecidos, enquanto valores de VDss $< -0,15$ sugerem distribuição do fármaco no plasma, também foi considerado a fração não ligada do fármaco que é à quantidade do fármaco que se

encontra livre no plasma e está disponível para extravasar do plasma para os tecido (Junior, 2020). No presente estudo os tiazóis apresentaram VDSs intermediários o que sugere que os compostos analisados tem tanto distribuição sanguínea quanto tecidual. Entretanto, a TSC-06 demonstrou baixo volume de distribuição (Quadro 1). Os resultados da fração não ligada do fármaco apresentaram-se dentro das faixas de 0 a 0,164 e 0 a 0,301 para os derivados tiossemicarbazônicos e tiazólicos, respectivamente, o que sugere uma boa disponibilidade de interação com os alvos (Junior, 2020) (Quadro 1).

Quadro 1 - Dados in silico de absorção, distribuição da TSC-06; TZ-09 e TZ-10.

Parâmetros	TSC-06	TZ-09	TZ-10	Referência
Absorção intestinal (%)	87,195%	91,187%	93,343%	> 30%
Permeabilidade Caco2 (log Papp em 10⁻⁶ cm/s)	1,553	0,987	1,09	≥ 0,90
VDSs (log L/kg)	-0,027	0,213	0,34	≤ -0,15 baixo; ≥ 0,45 alto
Fração não ligada	0,025	0,244	0,169	-

Fonte: Dos autores, 2024.

A metabolização da maioria dos fármacos ocorre através dos citocromos P450. Dessa forma, é importante avaliar a interação dos compostos com suas diferentes isoformas, onde consideramos as principais CYP2D6 e CYP3A4 (Pires; Blundell; Ascher, 2015). A CYP2D6 é uma enzima envolvida no metabolismo de aproximadamente 20% dos fármacos frequentemente usados e a CYP3A4 responsável pela biotransformação de mais de 50% dos medicamentos comercializados (Taylor *et al.* 2020; Carvalho; Lima; Mesquita, 2023).

O processo de indução e inibição de enzimas impacta no aumento ou diminuição, respectivamente, das concentrações plasmáticas dos fármacos, influenciando no efeito terapêutico e efeitos adversos. A indução promove o aumento da atividade enzimática reduzindo assim o seu tempo de meia vida e promovendo uma rápida excreção, no caso da inibição ocorre uma redução da atividade catalítica e, portanto um maior tempo de meia vida e maior concentração plasmática do fármaco o que pode ocasionar efeitos adversos (Barreiro; Fraga, 2015). A tiossemicarbazona inibe as duas isoformas e os tiazóis apenas a CYP3A4, o que pode acarretar como mencionado anteriormente um aumento das concentrações

plasmáticas e maior tempo de meia vida, que, por sua vez pode permitir doses menores e menos frequentes, possibilitando uma melhor adesão do paciente (Pereira, 2007) (Quadro 2).

Quadro 2 - Dados in silico de inibição da TSC-06; TZ-09 e TZ-10.

Parâmetro	TSC-06	TZ-09	TZ-10	Referência
Inibidor CYP2D6	sim	não	não	sim/não
Inibidor CYP3A4	sim	sim	sim	sim/não

Fonte: Dos autores, 2024.

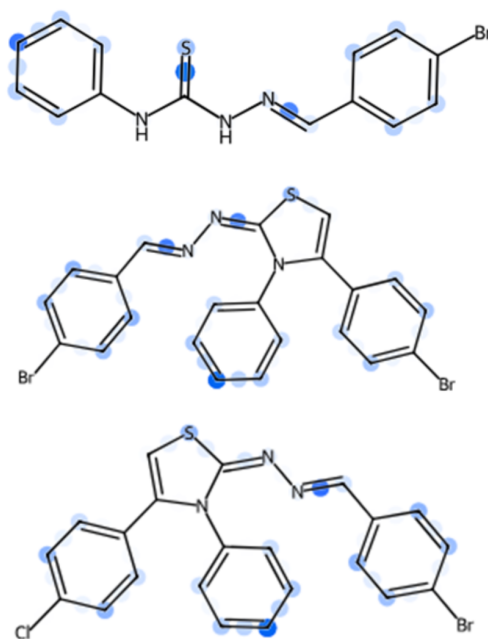
No metabolismo foram considerados os possíveis produtos de biotransformação dos compostos sintetizados, essas reações são importantes para excreção dos fármacos e podem ser divididas em fase 1 (oxidação, redução e hidrólise) e fase 2 (conjugação), gerando compostos conhecidos como metabólitos, que podem ser ativos ou inativos (Barreiro; Fraga, 2015; Pereira, 2007). Para a metabolização de fase 1, considerou-se as oxidações estáveis (hidroxilação, epoxidação e oxidação de heteroátomo). Além disso, também foram analisadas reações de oxidação instáveis (desalquilações, desalogenações, hidrólise e redução) (Barreiro; Fraga, 2015).

Com relação às oxidações estáveis, foi possível evidenciar uma maior probabilidade de hidroxilações aromáticas e epoxidações aromáticas. Entretanto, não se descartam as reações de s-oxidação e n-oxidação dos grupos tiocarbonila, amina e imina. Já com relação às reações de oxidação instável, hidrólise e redução, observou-se uma baixa probabilidade de ocorrerem.

Foi então considerada a hidroxilação que é a transformação metabólica mais comum de fase 1 e tem como objetivo favorecer a excreção renal. Nesse processo também pode ocorrer a bioativação e a formação de metabólitos ativos que podem ter maior afinidade com o receptor (Barreiro; Fraga, 2015).

A plataforma *online Xenosite* forneceu os pontos de maior chance de biotransformação que são destacados com círculos de coloração mais intensa e os de menores chances de ocorrer apresentam coloração mais clara (Dang *et al.*, 2020). Os metabólitos hidroxilados foram identificados como TSC-06-M1; TZ-09-M2 e TZ-10-M3 e testados nos estudos de ancoragem molecular.

Figura 3 - Reações de oxidações estáveis da TSC-06; TZ-09; TZ-10, respectivamente.



Fonte: Dos autores, 2024.

A depuração dos fármacos ocorre principalmente através de uma combinação de depuração hepática e depuração renal e está relacionada à biodisponibilidade do fármaco, onde um alto valor de depuração total representa um rápido processo de excreção (Pires *et al.*, 2015; Moraes *et al.*, 2018) (Quadro 3). Dessa forma, a excreção foi analisada através do *Clearance* Total que é a combinação do *clearance* renal e do *clearance* hepático e é calculado através do valor do log (mL/min/kg), sendo considerado a faixa de valor de -0,232 a 0,061 para tiossemicarbazonas e -0,018 a 0,411 para tiazóis (Júnior, 2020). Portanto, os compostos estudados estão dentro dos valores considerados como referência, representando assim um perfil adequado de excreção.

Quadro 3 - Dados de excreção e toxicidade *in silico* da TSC-06; TZ-09 e TZ-10.

Parâmetro	TSC-06	TZ-09	TZ-10	Referência
Clearance Total	-0,235	-0,057	-0,035	-
Hepatotoxicidade	não	não	não	sim/não

Fonte: Dos autores, 2024.

Outro parâmetro importante a ser mencionado é a toxicidade dos compostos, pois, a classe dos anti-inflamatórios não esteroidais apresenta maior probabilidade de causar hepatotoxicidade. Nesse caso as moléculas se mostraram não hepatotóxicas, uma vantagem

frente a alguns inibidores das cicloxigenases como a Nimesulida e Diclofenaco que estão associados ao surgimento de lesões hepáticas (Costa, 2019) (Quadro 3).

3.5 Docking Molecular

A primeira etapa para a realização dos estudos de Ancoragem Molecular foi o preparo dos ligantes, para isso foi considerado o estado de protonação das moléculas e seu principal metabólito de fase 1 no pH 7.4. Entretanto, os ligantes não apresentaram nenhuma forma protonada, utilizando-se assim sua estrutura molecular não ionizada.

Após isso, foi realizado o Redocking para validação do método e determinação da função de pontuação com menor Desvio Médio Quadrático (RMSD) que deve ter valor $\leq 2\text{\AA}$. Diante dos resultados apresentados no quadro 4 foi então empregado a função de pontuação *ChemPLP* para prever a afinidade de ligação do alvo e ligante.

Quadro 4 - RMSD obtidos para cada função de pontuação

COX-1: 4O1Z			COX-2: 4M11		
Função de pontuação	RMSD	Fitscore	Função de pontuação	RMSD	Fitscore
ChemASP	1.067	32.889	ChemASP	0.987	32.493
ChemPLP	0.3446	62.434	ChemPLP	0.302	65.783
ChemSCORE	1.283	29.623	ChemSCORE	1.147	33.135
GoldSCORE	1.032	56.768	GoldSCORE	1.376	61.969

Fonte: Dos autores, 2024.

Como observado no Quadro 5 abaixo, os resultados do Docking Molecular evidenciaram maior afinidade da tiossemicarbazona e seu metabólito para as duas isoformas das cicloxigenases. Dessa forma, esse composto não apresenta seletividade considerável para COX-2, diferente dos tiazóis que exibiram melhores Fitscores para esse alvo, sendo eles mais seletivos para essa determinada isoforma. Com o objetivo de buscar possíveis protótipos a fármacos COX-2 seletivos, visando os benefícios que essa classe possui, as análises da ancoragem molecular foram evidenciadas para os tiazóis.

Quadro 5 - Fitscore da TSC-06; TZ-09 e TZ-10 e seus metabólitos frente a COX-1 e COX-2

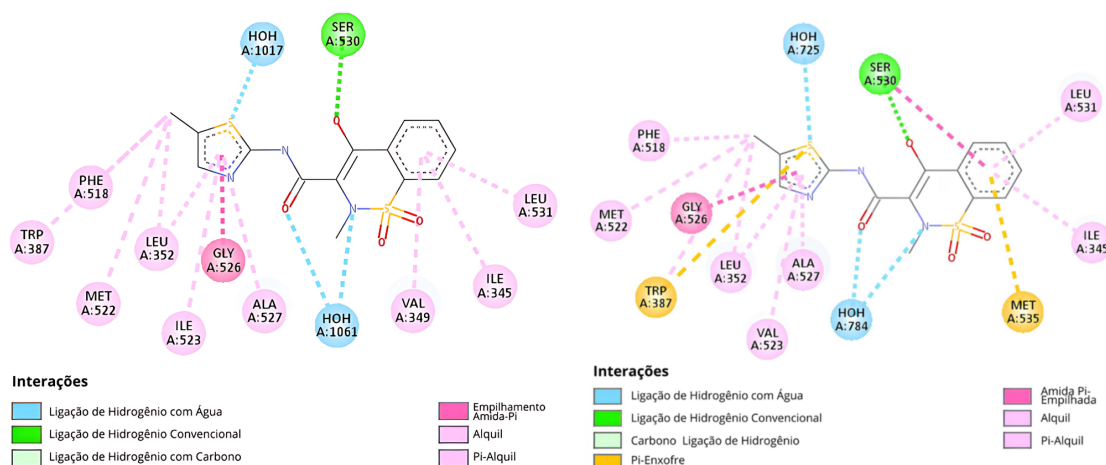
COX-1: 4O1Z		COX-2: 4M11	
Ligante	Fitscore	Ligante	Fitscore
Meloxicam	62.434	Meloxicam	65.7833
TSC-06	57.9246	TSC-06	64.7391
TSC-06-M1	49.4395	TSC-06-M1	59.6390
TZ-09	41.1048	TZ-09	56.9033
TZ-09-M2	32.3965	TZ-09-M2	55.6160
TZ-10	34.6208	TZ-10	37.5641
TZ-10-M3	28.6457	TZ-10-M3	56.6994

Fonte: Dos autores, 2024.

A figura abaixo representa a interação entre o Meloxicam que foi considerado como fármaco de referência e o alvo da COX-1 e COX-2, respectivamente, considerando os 4 principais aminoácidos do sítio ativo da enzima, sendo eles o Arg-120, Tyr-355, Tyr-385 e Ser-530. No complexo COX-1 com o meloxicam destaca-se o resíduo Ser-530 responsável por interagir diretamente com o grupo 4-hidroxil da fração benzotiazina por meio de ligações de hidrogênio (Xu et al., 2014). Os outros 3 aminoácidos atuam através de moléculas de águas funcionais formando ligações de hidrogênio, ademais também foram visualizadas 11 ligações hidrofóbicas entre os aminoácidos Ile-345, Val-349, Leu-352, Trp-387, Phe-518, Met-522, Ile-523, Gly-526 e Ala-527, Leu-531 e os grupamentos benzotiazina e metil-tiazol.

Com relação às interações ocorridas no complexo da COX-2 com o medicamento de referência utilizado é possível evidenciar determinadas semelhanças entre o complexo anterior como a presença da mesma interação do Ser-530 além das ligações indiretas do fármaco com os aminoácidos Arg-120, Tyr-355, Tyr-385. A principal diferença entre as isoformas das ciclooxigenases é referente ao acesso mais facilitado da COX-2 a um segundo bolso presente no sítio de ligação das enzimas, justificando-se pela substituição do resíduo de aminoácido Ile-523 por Val-523, gerando assim um menor impedimento estérico e ocasionando mudanças conformacionais na Tyr-355 (Figura 4).

Figura 4 - Complexo formado por COX-1 e COX-2 com Meloxicam.



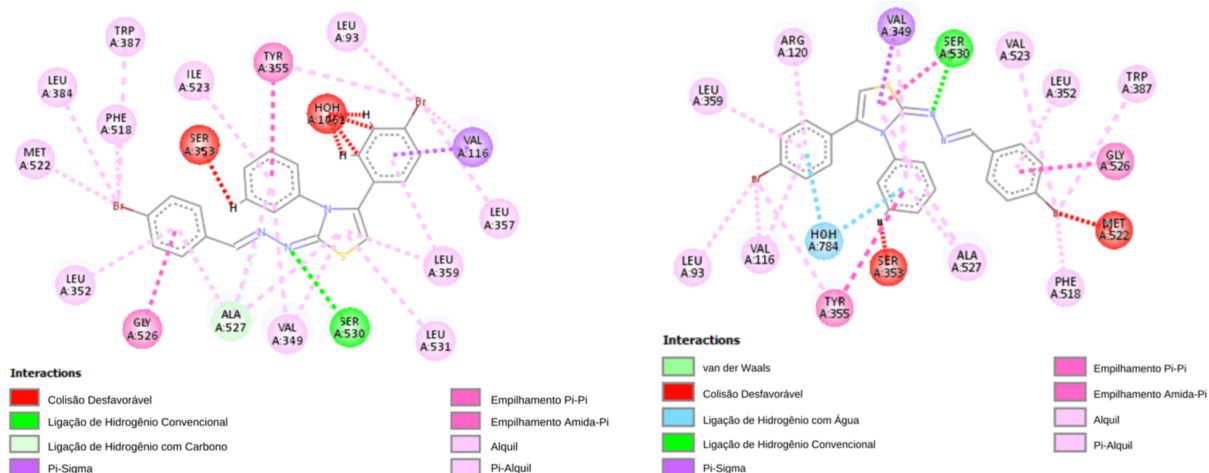
Fonte: Dos autores, 2024.

O composto com maior afinidade entre os tiazóis tratou-se do TZ-09, sendo possível observar sua rede de interações com os alvos COX-1 e COX-2, respectivamente na figura 5. Inicialmente, destaca-se a presença de uma ligação de hidrogênio entre o resíduo de aminoácido Ser-530 e a imina do ligante, interação também evidenciada no complexo formado com o meloxicam. Além disso, denota outra interação do tipo pi-pi entre o resíduo de aminoácido Tyr-355 e o grupamento fenil do tiazol.

Portanto, as interações supramencionadas são de importante destaque pela presença destes resíduos de proteína no sítio ativo da enzima e de relevância para o mecanismo de ação do meloxicam. Ademais, também foram evidenciadas interações do tipo alquil, pi-alquil, pi pi, pi-sigma e amida-pi entre os grupamentos brometos de arila, fenila e tiazol do ligante com os aminoácidos Leu-93, Val-116, Leu-357, Leu-359, Leu-531, Ser-530, Val-349, Ala-527, Gly-526, Leu-352, Met-522, Leu-348, Phe-518, Trp-387, Ile-523, totalizando 20 interações hidrofóbicas.

Por fim, apontam-se interações estéricas desfavoráveis entre o resíduo de aminoácido Ser-353 e a água funcional (HOH1061) com os grupamentos brometo de arila e fenila, impactando negativamente para estabilidade do complexo ligante-macromolécula e justificando a menor interação com o alvo quando comparado com o meloxicam.

Figura 5 - Complexo formado por COX-1 e COX-2 com TZ-09.



Fonte: Dos autores, 2024

Com relação às interações com a COX-2 e o TZ-09, percebe-se a manutenção de uma ligação de hidrogênio entre o resíduo de aminoácido Ser-530 e a imina do ligante, diferenciando-se pelo acréscimo de uma interação do tipo amida-pi com o anel tiazol, não evidenciada em COX-1. A interação entre o aminoácido Tyr-355 e o grupamento fenil foi mantida, com adição de uma nova interação do tipo pi-alkyl com o brometo de arila. Além disso, denota-se uma interação com a água funcional (HOH784), responsável pelas interações com Tyr-355 e Arg-120. Unido a isso, observou-se uma nova interação entre o resíduo de aminoácido Arg-120 e o brometo de arila do ligante.

Ademais, ambos os aminoácidos comentados são parte integrante do sítio ativo da enzima e considerados de importância para o mecanismo de ação de protótipos a fármacos. Outras interações do tipo alkyl, pi-alkyl, pi-pi, pi-sigma e amida-pi entre os grupamentos brometos de arila, fenila e tiazol do ligante com os aminoácidos Leu-93, Val-116, Leu-359, Val-523, Leu-352, Trp-387, Gly-526, Phe-518, Ala-527, Val-349 também foram visualizadas, totalizando 15 interações hidrofóbicas. Por fim, as interações estéricas desfavoráveis entre os resíduos de aminoácido Ser-353 e Met-522 e os grupamentos brometo de arila e fenila justificam a menor afinidade do composto quando comparado ao meloxicam.

Por fim, destaca-se que as hidroxilações aromáticas apresentadas nos metabólitos da grande maioria dos compostos sintetizados ocasionaram em uma redução da afinidade frente a ambas as isoformas da cicloxigenase. Com exceção do metabólito TZ-10-M3, que apresentou maior fitcore para COX-2 quando comparado ao seu precursor TZ-10. No entanto, fármacos

com metabólitos ativos como produto da fase 1, indicam maiores chances de toxicidade devido a possibilidade de acúmulo da substância até que ocorra a fase 2 (Uzai *et al.*, 2022).

CONCLUSÃO

Por fim, os resultados apresentados na espectroscopia na região do infravermelho e na cromatografia em camada delgada (CCD) indicam a formação dos compostos estudados, entretanto, ressalta-se a importância da aplicação de técnicas como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para a validação da caracterização estrutural. A avaliação da biodisponibilidade oral *in silico* demonstra que os compostos TSC-06 e TZ-10 possuem bons atributos para essa via de administração, já o TZ-09 necessita de outras estratégias químicas que visem melhorar sua solubilidade ou veiculação por outras vias de administração. Com relação aos dados de ADMET os compostos manifestam-se dentro dos parâmetros de absorção e os tiazóis indicam boa distribuição tecidual e sanguínea. A avaliação da metabolização evidenciou que a TSC-06 inibe as duas principais isoformas do citocromo P450 (CYP4D6 E CYP3A4) e os tiazóis apenas a CYP3A4, além disso, os compostos apontam boa excreção e não foram considerados hepatotóxicos. O estudo de *Docking* Molecular evidencia um potencial anti-inflamatório para os protótipos a fármacos semelhante ao medicamento de referência utilizado, destacando os melhores resultados tanto de seletividade quanto afinidade para o TZ-09 e TZ-09-M2, sendo mais seletivo para COX-2 que o Meloxicam. Dessa forma, é notável que os tiazóis podem ser considerados alternativas relevantes para o desenvolvimento de novos fármacos, requerendo de pesquisas mais robustas para investigar de forma plena suas propriedades.

REFERÊNCIAS

- BALAKRISHNAN, N. *et al.* Effect of N-benzyl group in indole scaffold of thiosemicarbazones on the biological activity of their Pd(II) complexes: DFT, biomolecular interactions, in silico docking, ADME and cytotoxicity studies. **Inorganica Chimica Acta**, v. 534, 2022.
- BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos A. M. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- BATISTA, Victor. *et al.* Construção, Otimização E Ancoragem Molecular De Substâncias Bioativas Em Biomacromoléculas: Um Tutorial Prático. **Química Nova**, vol. 45, n. 2, p. 223- 234, 2021.
- CARVALHO, A. A.; LIMA, K. S.; MESQUITA, A. O. D. Paxlovid: development, pharmacology and

implications for pharmaceutical practice. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. e18112541699, 2023. DOI: 10.33448/rsd-v12i5.41699. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/41699>. Acesso em: 05 nov. 2024.

COSTA, Ingrid Andresa Fernandes. **Fármacos Hepatotóxicos E Hepatoprotetores: Uma Revisão De Literatura**. 2019. 54 f. Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde, UFCG, 2019.

CHAMUSCA, Flávia. V. *et al.* Mediadores do efeito sistêmico do processo inflamatório e terapias fotobiomoduladoras: uma revisão de literatura. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 11, n. 1, p. 70–78, 2012. DOI: 10.9771/cmbio.v11i1.5705. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/5705>. Acesso em: 17 out. 2024.

DANG, Na Le *et al.* The metabolic rainbow: deep learning phase I metabolism in five colors. **Journal of chemical information and modeling**, v. 60, n. 3, 10 fev, p. 1146-1164, 2020.

DUDZINSKI, David. M.; SERHAN, Charles. N. Farmacologia dos Eicosanóides. *In*: GOLAN, David E.; TASHJIAN, Armen H.; ARMSTRONG, Ehrin J. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 972 p. ISBN 9788527723657.

ESPÍNDOLA, Leandro. **Síntese, atividade biológica e propriedades ADME de novos derivados quinolínicos contendo o núcleo pirazolina e tiazol**. 2017. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

ETIENNE, Rachelle.; VIEGAS, Flávia. P. D.; JR, Cláudio. V. Aspectos fisiopatológicos da inflamação e o planejamento de fármacos: uma visão geral atualizada. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, 2021.

HOTTES, Emanuel. **Complexos de CU^{II} com ligantes derivados de tiazol e tioimidazol: síntese e avaliação da atividade citotóxica**. 2016. 93 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2016.

JASASS, Rabab. S.; ALSHEHREI, Fatimah.; FARGHALY, Thoraya. A. Microwave-Assisted Synthesis of Antimicrobial Agents Containing Carbazole and Thiazole Moieties. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 2099–2106, 2018.

JÚNIOR, Natanael da Silva Bezerra. **Obtenção, caracterização estrutural e estudo in silico e avaliação da atividade antimalárica de novos derivados tiossemicarbazônicos e tiazólicos**. 2020. 222 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

MARQUES, Adrian Araújo. *et al.* Impactos do uso indiscriminado dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) na saúde cardiovascular: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 15, n. 11, e11189, 2022.

MARUFA, Sumita Saznin. *et al.* Conventional and microwave-assisted synthesis, antimicrobial and antioxidant activity evaluation with in silico studies of carbazole-thiazole Schiff base hybrids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1321, p. 139861, 2024.

MENDES, Edinéia Pastro. *et al.* Evaluation of Novel Chalcone-Thiosemicarbazones Derivatives as Potential Anti-Leishmania amazonensis Agents and Its HSA Binding Studies. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 643, 2019.

MELQUIDES, Jhenyffer Eler. *et al.*, Química medicinal e o desenvolvimento de novos fármacos. **Forum Rondoniense de Pesquisa**, v. 4, n. 9, Disponível em: 2023.<https://jiparana.emnuvens.com.br/foruns/article/view/1006/668>. Acesso em: 17 de out. 2024.

MIRANDA, Mirelly Dianne Santos de. **Obtenção, caracterização estrutural de novos derivados tiossemicarbazonas candidatos à agentes anti-inflamatórios**. 2018, 96 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

MORAES, Ana Daura Travassos de Oliveira. *et al.* Synthesis, in vitro and in vivo biological evaluation, COX-1/2 inhibition and molecular docking study of indole-N-acylhydrazones derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. vol. 26, n. 20, p. 5388-5396, 2018.

MOHANTY, M.; Mohanty, P. S. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. **Monatsh Chem**, 154 , 683–707, 2023.

MUĞLU, H. Synthesis, spectroscopic characterization, DFT studies and antioxidant activity of new 5-substituted isatin/thiosemicarbazones. **Journal of Molecular Structure**, v. 1322, p. 140406, 2024.

MURPHY, Kenneth M.. **Imunobiologia de Janeway**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NASCIMENTO, Pedro Henrique Do Bomfim. *et al.* Tiossemicarbazonas Como Potenciais Agentes Antimicrobianos: Uma Mini Revisão. In: SILVA, Daniel Augusto.; JÚNIOR, Fábio Ferreira de Carvalho. **Ciências Da Saúde: Desafios e Potencialidades Em Pesquisa**. 1. ed. Editora Científica Digital eBooks, 2023. E-book. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/books/978-65-5360-281-6.pdf>. Acesso em: 17 de out. 2024.

NASCIMENTO, Pedro Henrique do Bomfim. **Novos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis : síntese, elucidação estrutural e avaliação da atividade antimicrobiana**. 2020. 124 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

NETO, Luiz Nascimento de Araújo. *et al.* Synthesis, cytotoxicity and antifungal activity of 5-nitro-thiophene-thiosemicarbazones derivatives. **Chemico-Biological Interactions**. vol. 272. p. 172-181, 2017.

NISO, Mauro. *et al.* Multifunctional thiosemicarbazones targeting sigma receptors: in vitro and in vivo antitumor activities in pancreatic cancer models. **Cellular Oncology**, v. 44, n. 6, p. 1307–1323, 2021.

OLIVEIRA, Mariana. M. C. *et al.* O Uso Crônico De Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais E Seus Efeitos Adversos. **Cadernos da Medicina**, v. 2, n. 2, 2019.

ONIGA, Smaranda D. *et al.* COX Inhibition Profile and Molecular Docking Studies of Some 2-(Trimethoxyphenyl)-Thiazoles. **Molecules** , v. 22, n. 9, p. 1507, 2017.

PAVIA, Donald L. *et al.* **Introdução a Espectroscopia**. 4. ed. Cengage Learning, 2010.
PEREIRA, Dárcio Gomes. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, vol. 30, n. 1, p. 171-177, 2007.

PETROU, Anthi.; FESATIDOU, Maria.; GERONIKAKI, Athina. Thiazole Ring—A Biologically Active Scaffold. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3166, 2021.

PIRES, Douglas. E. V.; BLUNDELL, Tom. L.; ASCHER, David. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 2015.

PRASAD, KD Venu. *et al.* Synthesis, characterization, and evaluation of pyrimidinone-linked thiazoles: DFT analysis, molecular docking, corrosion inhibition, and bioactivity studies. **Heliyon**. vol. 10, n. 20. 2024.

SANTOS, Lucianna Helene. Docagem molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. **Revista Brasileira de Bioinformática**, 1. ed. 2021.

TAYLOR, Cristóvão. *et al.* A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. **Genes**. vol. 11. n. 11. 2020.

UZAI, Fabiola Ribeiro; BORIN, Fabiane Yuri Yamacita; CARRARO, Diogo César. Potenciais interações medicamentosas graves entre antidepressivos e ansiolíticos hipnóticos. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 38, n. especial, 29 nov, p. 52-66, 2022.

XU, Shu. *et al.* Oxicams Bind in a Novel Mode to the Cyclooxygenase Active Site via a Two water-mediated H-bonding Network. **Journal of Biological Chemistry**. vol 289. n. 10. p. 6799-6808. 2014.